

Identificar os padrões de virulência de isolados de *Pyricularia oryzae* no hospedeiro de braquiária

Marcelo Henrique de Souza^{1*} (IC); Juliana Teodora de Assis Reges² (PQ).

¹ Discente do curso de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Goiás - Câmpus de Jataí (GO). ² Docente da Universidade Estadual de Goiás - Campus de Jataí (GO). Autor Para Correspondência: marceloinsidenova@gmail.com

Resumo: A Espécies de fungos do gênero *Pyricularia* estão associadas com a doença brusone em plantas da família Poaceae. *Pyricularia oryzae* é a espécie de maior incidência e distribuição mundial, causando perdas em culturas de importância econômica como arroz, aveia, centeio, cevada, trigo e triticale. Dessa forma, este estudo teve como objetivo caracterizar o espectro de patogenicidade de *P. oryzae* do trigo e plantas invasoras nos hospedeiros de braquiária. A pesquisa foi conduzida no Laboratório e na casa-de-vegetação na Universidade Estadual de Goiás, no Campus de Jataí. Foram testados 10 isolados de *Pyricularia* spp. obtidos de amostras de folhas infectadas de plantas invasoras de campos de trigo. De acordo com os resultados, conclui-se que os isolados de *Pyricularia oryzae* testados, foram patogênicas à braquiária, com diferenças na agressividade. A espécie de *Urochloa* spp. representam fonte permanente de inóculo inicial de *P. oryzae* patótipo *Triticum* entre as épocas de cultivo de trigo.

Palavras-chave: Brusone. Patogenicidade. Inoculação. Agressividade.

Introdução

Originalmente, a ordem do gênero *Pyricularia* possui uma única família (*Magnaportheaceae*), composta por 13 gêneros e mais de 100 espécies (KLAUBAU et al., 2014). Contudo, extensos estudos baseados na morfologia e filogenia das espécies tem conduzido para alterações taxonômicas, como a introdução de novas espécies, definição de novas famílias, designação de novos gêneros e alocação do gênero *Magnaporthe* para o gênero *Pyricularia*. Além disso, houve a inserção de novas espécies de *Pyricularia* previamente não descritas em plantas poáceas, como a *P. ctenantheicola*, *P. penniseticola*, *P. pennisetigena* e *P. zingibericola*. (LUO; ZHANG, 2013; MURATA et al., 2013; KLAUBAU et al., 2014).

A brusone causa perdas elevadas em arroz a nível mundial (OU, 1985). No Brasil, tem causado perdas consideráveis também no trigo (GOULART et al., 2007). A emergência do patógeno da brusone do trigo é relativamente recente, remontando a 1985 (IGARASHI et al., 1986) quando as primeiras epidemias da doença foram

detectadas no Estado do Paraná, no sul do Brasil. A brusone do trigo emergiu como uma doença de importância também no Paraguai e na Bolívia (DUVEILLER et al., 2010). Não há relatos de que *P. oryzae* infecta trigo em outras partes do mundo. *P.oryzae* foi recentemente identificado como agente causal de brusone em cevada, centeio e triticale em áreas do Centro-Oeste e na Região Sul do Brasil (MARCIEL et al., 2014). Considerando a importância econômica dessas commodities agrícolas, a doença causada por *Magnaporthe* em triticale, trigo, arroz e cevada tem grande importância mundial.

De forma bastante peculiar dentro do complexo de espécies *Pyricularia oryzae* do trigo apresenta uma vasta gama de plantas Poaceae hospedeiras que podem ser fonte de inóculo primário do patógeno. Linhagens de *P. oryzae* provenientes de trigo foram capazes de infectar plantas Poáceas de seis tribos distintas (URASHIMA et al., 1993; REGES et al., 2016). Paradoxalmente, apesar da situação endêmica da brusone do arroz no Brasil desde 1912, o arroz é considerado não hospedeiro para *P. oryzae* derivado do trigo. Dessa forma, embora a crença comum era de que *P. oryzae* não era hospedeiro-específico e que linhagens adaptadas ao arroz teriam dado origem à brusone do trigo, algumas evidências sugerem o contrário (URASHIMA et al., 1993; TOSA e CHUMA, 2014). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo caracterizar o espectro de patogenicidade de *P.oryzae* do trigo e plantas invasoras no hospedeiro de braquiária.

Material e Métodos

Origem dos isolados

Para o estudo comparativo da caracterização fenotípica de isolados de *Pyricularia oryzae*, foram utilizados 15 isolados provenientes de folhas de plantas invasoras ou espigas de trigo e dois isolados de arroz utilizado como controle, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Isolados trabalhados de *Pyricularia oryzae* obtidos de amostras de trigo e gramíneas invasoras de áreas de trigo em 2016.

Isolado	Hospedeiro
16.0.001j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.002j	Capim-colonião (<i>Panicum maximum</i>)
16.0.003j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.004j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.005j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.006j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.007j	Capim-carrapixo (<i>Cenchrus echinatus</i>)
16.1.001j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.002j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.003j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.004i	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.005j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.006j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.007j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.008j	<i>Triticum aestivum</i>
001	<i>Oryza sativa</i>
002	<i>Oryza sativa</i>

Fonte: Elaborado pelo autor

Preparação do inóculo

Os isolados de *Pyricularia oryzae* foram cultivados em placas de Petri contendo meio aveia-ágar e mantidos sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C, durante cinco dias. Feito isso, discos de 5 mm contendo micélio e conídios de *Pyricularia* spp. foram transferidos para outras 10 placas contendo meio de aveia, para produção e obtenção de esporos. As colônias de fungos foram mantidas por 15 dias sob as mesmas condições de cultivo (MACIEL et al., 2014; REGES et al., 2016; REGES, 2016).

Semeadura

A semeadura do hospedeiro de braquiária (*Urochloa brizantha*) cv. Piatã, foram realizadas nos dias 6 de setembro de 2016 e 27 de maio de 2017, cerca de 8 a 10 sementes foram semeadas em saquinhos plásticos de 300 mL, contendo substrato para plantas Tropstrato HT hortaliças (Vida Verde). Antes da inoculação, as plantas foram mantidas em telado à temperatura de 25 a 30 °C e regime de 12 horas de luz, e foram irrigadas diariamente. Uma adubação (2,6 g/vaso) com o formulado N-P-K (10-10-10) foi realizada 10 dias após as semeaduras.

Três semanas após a emergência quando as plantas testadas estavam no estágio fenológico de quatro folhas, o desbaste foi realizado deixando apenas seis plantas por saquinho. Os saquinhos foram distribuídos aleatoriamente dentro da casa de vegetação seguindo o delineamento casualizado, com 1 cultivares, 5 repetições de cada isolado. Cada parcela experimental consistiu de um vaso contendo seis plantas, totalizando 30 plantas.

Inoculação de *Pyricularia* spp. em braquiária

A inoculação foi realizada com o auxílio de bomba spray de ar sob pressão a suspensão de conídios foi pulverizada sobre cada uma das plantas até o total molhamento da superfície foliar, adaxial e abaxial. Após a inoculação, as plantas foram incubadas por 24 horas no escuro em câmara tipo Fitotron, à temperatura de 24 °C sob nebulização. Após, as parcelas experimentais foram transferidas para casa de vegetação e com 12 horas de luz solar. Os vasos foram irrigados diariamente.

Avaliação

As plantas foram avaliadas sete dias após a inoculação. Cinco folhas com sintomas de brusone por vaso foram fotografadas usando uma câmera digital marca Samsung. Os níveis de agressividade dos isolados foram determinados com base na porcentagem de área foliar infectada das plantas com sintomas de brusone. A área foliar infectada foi determinada com o uso do software para análise de imagens digitais Assess Image Analysis Software for Plant Disease Quantification version 2.0 da APS – American Phytopathological Society (Lamari, Department of Plant Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá). A análise de variância foi realizada usando o pacote de software estatístico ASSISTAT 7.7 (SILVA e AZEVEDO, 2016). A análise da variância e as médias dos isolados dos hospedeiros foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Diferenças significativas foram detectadas entre a espécie de *Pyricularia oryzae* quanto à severidade de brusone no hospedeiro de braquiária (Tabela 2, Figura 1). Todos os isolados testados foram patogênicos à braquiária. Com relação aos isolados de *P. oryzae* provenientes de plantas invasoras os isolados 16.0.001j, 16.0.003j, 16.0.004j e 16.0.005j foram o mais agressivo às plantas jovens de braquiária, proporcionando, em média de 37,87; 38,59; 39,19; 33,78% respectivamente de área foliar infectada. Um dos fatores que explicaria a maior agressividade desses isolados em braquiária é a origem de alguns isolados do próprio hospedeiro, podendo assim, apresentar melhor adaptabilidade. Já os grupos de isolados de *P. oryzae* de plantas de trigo, os mais agressivos foram 16.1.002j, 16.1.003j e 16.1.007j proporcionando médias de severidade de 41,19; 47,68 e 38,96% de área foliar infectada, respectivamente.

Tabela 2. Médias de agressividade dos patógenos de *Pyricularia oryzae* em hospedeiros de braquiária.

Tratamentos	Hospedeiro
16.0.001j	37,87 a
16.0.002j	17,48 d
16.0.003j	38,59 a
16.0.004j	39,19 a
16.0.005j	33,78 ab
16.0.006j	30,86 b
16.0.007j	19,64 d
16.1.001j	22,98 c
16.1.002j	41,19 a
16.1.003j	47,68 a
16.1.004j	10,26 e
16.1.005j	23,66 c
16.1.006j	21,98 c
16.1.007j	38,96 a
16.1.008i	11,36 e
001	13,46 e
002	12,47 e
F	91,34**
CV(%)	9,69

Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey. Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1: Lesões foliares em braquiária cv. Piatã, inoculadas com *Pyricularia oryzae*



Fonte: Elaboração dos autores

Finalmente, este estudo demonstrou também, que *P. oryzae* patótipo *Triticum* tem uma gama de hospedeiros mais ampla do que trigo, arroz, cevada, (GOULART et al., 2007; REGES et al., 2016). Particularmente, considerando a gama de hospedeiros de *P. oryzae* patótipo *Triticum*, pode-se destacar a importância das plantas invasoras em áreas de trigo como fonte de inóculo inicial do patógeno para infecção de espigas de trigo, confirmando observações de Urashima et al. (1993).

Entre as espécies de plantas invasoras, sejam elas nativas ou não, destacaram-se *Urochloa* spp., *Panicum* spp. e *Cenchrus* spp. como fontes adicionais de inóculo, em função da ampla distribuição geográfica como forrageiras cultivadas no Brasil (ZIMMER et al. 2012; REGES et al., 2016). *Urochloa* spp. além de ser a forrageira mais cultivada no país, foi hospedeira de *P. oryzae*. Assim, extensas áreas de pastagens cultivadas com o gênero *Urochloa*, especialmente no cerrado brasileiro, representariam uma potencial fonte permanente de inóculo inicial entre as épocas de cultivo de trigo, mantendo ativo o inóculo de *P. oryzae* patótipo *Triticum* (REGES et al., 2016).

Considerações Finais

De acordo com os resultados, conclui-se que os isolados de *Pyricularia oryzae* testados, foram patogênicas à braquiária. A espécie de *Urochloa* spp. representam fonte permanente de inóculo inicial de *P. oryzae* patótipo *Triticum* entre as épocas de cultivo de trigo.

Agradecimentos

À Universidade Estadual Goiás (UEG) pela aprovação do projeto e a concessão da Bolsa Científica Voluntária para o primeiro autor

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Trigo (EMBRAPA) pela concessão da sementes que foram utilizadas no experimento.

Referências

DUVEILLER, E.; HODSON, D.; TIEDMANN, A. Wheat blast caused by *Magnaporthe grisea*: a reality and new challenge for wheat research. In: International wheat Conference, 8., 2010. St. Petersburg. Conference.. St. Petersburg: Vavilov Research Institute of Plant Industry, 2010. p.247-248.

GOULART, A. C. P.; SOUSA, P. G.; URASHIMA, A. S. Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 358-363, 2007.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C. M.; IGARASHI, L. C.; KAZUMA, A. H.; LOPES, R. S. *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 351-352 1986.

KLAUBAUF, S.; THARREAU, D.; FOURNIER, E.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W.; DE VRIES, R. P.; LEBRUN, M. H. Resolving the polyphyletic nature of *Pyricularia* (*Pyriculariaceae*). **Studies in mycology**, Baarn, v. 79, p. 85-120, 2014.

LUO, J.; ZHANG, N. Magnaporthiopsis, a new genus in Magnaporthaceae (Ascomycota). **Mycologia**, Lancaster, v. 105, n. 4, p. 1019-1029, 2013.

MACIEL, J. L. N., CERESINI, P. C., CASTROAGUDIN, V. L., KEMA, G. H. J., MCDONALD, B. A. Population structure and pathotype diversity of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MURATA, N.; AOKI, T.; KUSABA, M.; TOSA, Y.; CHUMA, I. Various species of Pyricularia constitute a robust clade distinct from Magnaporthe salvinii and its relatives in Magnaporthaceae. **Journal of general plant pathology**, Tokyo, v. 80, n. 1, p. 66-72, 2013.

OU, S. H. Blast. In: OU, S. H. (Ed.). **Rice diseases**. 2. Wallingford: CAB International, 1985. p.109-201.

REGES, J. T. A.; NEGRISOLI, M. M.; DORIGAN, A. F.; CASTROAGUDÍN, V. L.; MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C. Pyricularia pennisetigena and P. zingibericola from invasive grasses infect signal grass, barley and wheat. **Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia**, v. 46, n. 2, p. 206-214, 2016.

REGES, J. T.A. **Biologia e estrutura genética de populações do patógeno da brusone do trigo no Centro-Sul do Brasil**. 2016. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia: Sistema de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Ilha Solteira, 2016.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental Afr. **J. Agric. Res.** Vol. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

TOSA, Y.; CHUMA, I. Classification and parasitic specialization of blast fungi. **Journal of general plant pathology**, Tokyo, v. 80, n. 3, p. 202-209, 2014.

URASHIMA, A. S.; IGARASHI, S.; KATO, H. Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. **Plant disease**, St. Paul, v. 77, p. 1211-1216, 1993.

ZIMMER, A. H. et al. **Degradação, recuperação e renovação de pastagens**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2012. 42 p. (Embrapa Trigo. Documentos, 189.) Disponível em: <
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77431/1/DOC189.pdf>> Acesso em: 19 jun. 2017).